

УДК 612.741.91

Сократительная активность скелетной мышцы и судьба миоядер

Б. С. Шенкман*, О. В. Туртикова, Т. Л. Немировская, А. И. Григорьев

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

*E-mail: shenkman@imbp.ru

Поступила в редакцию 28.12.2009 г.

РЕЗЮМЕ Зрелое скелетное мышечное волокно является симпластом – многоядерной структурой, образованной в онтогенезе путем слияния клеток-предшественников, миобластов. Ядра мышечного волокна (миоядра) располагаются на его периферии в пространстве, находящемся между миофибриллами и сарколеммой, клеточной мембраной. Теоретически масса скелетной мышцы при разгрузке или нагрузке может меняться за счет изменения количества миоядер, скорости процессов транскрипции, трансляции и интенсивности протеолиза. В этом обзоре рассматриваются данные, накопленные в мировой литературе, относящиеся к феноменологии и предполагаемым механизмам изменения количества ядер мышечных волокон при повышенной и пониженной сократительной активности. В ряде случаев (при тяжелых мышечных и системных заболеваниях и при гравитационной разгрузке) мышечная атрофия сопровождается уменьшением количества ядер в мышечном волокне. Редукцию миоядерного числа обычно объясняют развитием ядерного апоптоза в мышечных волокнах. Появление новых ядер в волокне может быть обеспечено только клетками-миосателлитами при их слиянии с мышечным волокном. Считается, что именно они обеспечивают мышечное волокно дополнительными ядрами для роста в постнатальный период, а также при рабочей гипертрофии и участвуют в восстановлении и локальной регенерации мышечных волокон после повреждения. В обзоре рассматриваются возможные механизмы, регулирующие пролиферацию клеток-миосателлитов в условиях нагрузки, функциональной разгрузки и пассивного растяжения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА скелетная мышца, миоядра, апоптоз, физическая тренировка, рабочая гипертрофия, клетки-миосателлиты, ростовые факторы, гравитационная разгрузка, растяжение.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ IGF (insulin-like growth factor) – инсулиноподобный фактор роста, AIF – апоптозиндуцирующий фактор, GFP – зеленый флуоресцирующий белок, BrdU – бромдезоксисуридин, c-Met – рецептор для HGF, HGF – фактор роста гепатоцитов, FGF – фактор роста фибробластов, MMPs – матриксные металлопротеиназы, MGF – механозависимый фактор роста.

ВВЕДЕНИЕ

Скелетная мышца – одна из наиболее пластичных структур в организме млекопитающих. Повышенная активность и нагруженность мышцы часто приводят к увеличению ее поперечных размеров (толщины), увеличению объема миофибрилярного аппарата, значительному повышению его сократительных возможностей (силы, мощности). В основе такой перестройки лежит устойчивое изменение паттерна экспрессии генов.

Хроническое снижение функциональной нагрузки на постуральные мышцы, и прежде всего *m. soleus*, при длительном изменении действия гравитационных сил (переход в горизонтальное положение, устранение опоры на все или только задние конечности, пребывание в условиях невесомости), которое принято называть гравитационной разгрузкой, приводит к глубокой перестройке всей структурно-функциональной организации мышечной ткани [1–3]. Среди наиболее важных проявлений гипогравитационной перестройки мышц – снижение сократительных возможностей (силы и работоспособности), снижение жесткости мышцы и ее волокон, значительное уменьшение

объема ядерного, миофибрилярного аппарата и размеров волокна (атрофия), разрастание соединительно-тканых и экстрацеллюлярных структур, изменение миозинового фенотипа волокон в сторону увеличения экспрессии быстрых изоформ тяжелых цепей миозина. Данные последних лет позволяют считать, что в основе гравитационно-зависимой перестройки волокон *m. soleus* лежит стабильное направленное изменение экспрессии большого числа генов, формирование нового целостного, т.н. атрофического, паттерна экспрессии.

Зрелое мышечное волокно является симпластом, многоядерной структурой, образованной в онтогенезе путем слияния клеток-предшественников, миобластов. Ядра мышечного волокна располагаются на его периферии в пространстве, находящемся между миофибриллами и сарколеммой, клеточной мембраной. В мышечной ткани имеются и другие ядра, принадлежащие фибробластам, эндотелиальным клеткам, клеткам-предшественникам (миосателлитам). Поэтому в литературе собственные ядра мышечных волокон принято называть миоядрами. Теоретически масса скелетной мышцы при разгрузке или нагрузке мо-

жет меняться за счет изменения количества миоядер, скорости процессов транскрипции, трансляции и интенсивности протеолиза. В этом обзоре будут рассматриваться данные, накопленные в мировой литературе, относящиеся к феноменологии и предполагаемым механизмам изменения количества ядер мышечных волокон при повышенной и пониженной сократительной активности.

Ядра зрелых мышечных волокон являются постмитотическими и не способны к делению. Количество миоядер очень важно, поскольку оно определяет количество ДНК, необходимой для поддержания транскрипции генов [4]. Взаимотношение между размером волокон и числом миоядер легло в основу концепции миоядерного домена, которая впервые предложена в работах Cheek и соотр. [5]. Миоядерный домен представляет собой объем цитоплазмы мышечного волокна, управляемый продуктами экспрессии генов одного миоядра. Несмотря на то, что понятие ядерного домена довольно условно и очевидно, что экспрессия генов, распределение белков по мышечному волокну зависит от множества переменных, этим понятием удобно пользоваться при описании механизмов пластичности мышц. Во многих работах анализируется не сам домен, а площадь поперечного сечения волокна, приходящаяся на одно миодро.

Для выявления миоядер обычно используют традиционные ядерные красители, специфически связывающие ДНК. Основная проблема, с которой сталкиваются исследователи, определяющие количественные показатели ядерного пула мышечного волокна, состоит в том, что при анализе поперечных срезов мышечной ткани без применения специальных приемов оказывается невозможным отличить ядра, находящиеся по разные стороны границы волокна. Для решения этой проблемы применяют различные подходы. В частности, используют двойную одновременную окраску (double labeling) ядер и специфических белков субсарколеммального слоя, например дистрофина [6]. Многие авторы анализируют ядерный состав изолированного мышечного волокна [7, 8]. При анализе изолированного волокна приходится иметь дело с объемной структурой, что делает необходимым использование конфокального лазерного микроскопа. Такой подход имеет очевидные преимущества: можно анализировать весь ядерный пул волокна (а не только ядра, попадающие в плоскость поперечного среза), можно проследить распределение плотности ядер по длине волокна и его элементарной единицы – саркомера. Однако размер выборки волокон оказывается в этом случае весьма ограниченным (20–30 волокон на биопробу).

Allen с соавт. была выдвинута гипотеза постоянства миоядерного домена при изменении размеров мышечных волокон (атрофии и гипертрофии) [4]. Они выявили, что размеры миоядерного домена неизменны во время острой стадии гипертрофии. Пропорциональное увеличение количества миоядер и объема цитоплазмы при гипертрофии было обнаружено в исследованиях на модели функциональной гипертрофии, вызванной удалением мышц-синергистов [9]. Этим же коллективом авторов была показана вариабельность размеров миоядерного домена при хроническом увеличении или уменьшении нагрузки на собаках [10] и уменьшение его размеров при атрофии у крыс [7]. Гипотеза постоянства миоядерного домена, таким образом, оказалась несостоятельной и в дальнейшем была опровер-

гнута многочисленными исследованиями в условиях разгрузки и тренировки [11–13, 8]. Установлено, что размер миоядерного домена меняется в течение жизни животного [14–16]. Недавние исследования итальянских авторов еще раз подтвердили возможность гипертрофии без инкорпорации новых миоядер, т.е. увеличение миоядерного домена при гипертрофии [11].

РЕДУКЦИЯ МИОЯДЕРНОГО ЧИСЛА

В ряде случаев (при тяжелых мышечных и системных заболеваниях и при гравитационной разгрузке) мышечная атрофия сопровождается уменьшением количества миоядер на волокно при соответствующем развитии апоптотических процессов в миодрах. Такая редукция миоядерного числа наблюдалась в четырехглавой мышце астронавтов после космического полета [17], в камбаловидной мышце крыс после космического полета [10, 12], при моделировании разгрузки на крысах с использованием т.н. вывешивания задних конечностей [18, 19], при иммобилизации камбаловидной мышцы. Потери миоядер наиболее интенсивны в медленных волокнах [19]. В исследованиях на единичных волокнах установлено снижение размеров миоядерного домена после разгрузки в *m. soleus*, но не в *m. plantaris* у крыс [12]. Миоядерный домен также имел тенденцию к снижению после 14-суточного космического полета у макак резус [20]. Wang с соавт. показали, что после 16 дней вывешивания у крыс уменьшается площадь поперечного сечения волокон *m. soleus*, число миоядер (на 25 %) и размер ядерного домена [21].

Редукцию миоядерного числа обычно объясняют развитием ядерного апоптоза в мышечных волокнах. Процессы апоптоза в мышечных волокнах развиваются несколько иначе, нежели в других клеточных типах. Ультраструктурные признаки деструкции ядра при изменении сократительной активности обычно слабо выражены. В то же время разрывы ДНК в ядре сопровождаются рядом митохондриальных и внемитохондриальных событий, которые принято считать звеньями взаимозависимых сигнальных путей, обуславливающих апоптотические процессы.

Апоптотические ядра в волокнах скелетных мышц наблюдали при дистрофии Дюшена (и на ее биологической модели – животных линии mdx) [22], при поражении мышц на фоне хронической сердечной недостаточности, развитии бокового амиотрофического склероза и в ряде других случаев. Апоптоз миоядер также наблюдали и после специфического вида физических нагрузок, т.н. эксцентрической работы [23]. При таком состоянии напряжение мышечного волокна развивается на фоне его растяжения. Это сокращение вызывает многочисленные деструктивные изменения цитоскелетных белков и сарколеммы. В 1997 г. в работе Allen и др. впервые сообщалось о присутствии апоптотических ядер при вывешивании крыс [18]. У крыс максимальное число апоптотических ядер в волокнах *m. soleus* (судя по окраске TUNEL, выявляющей разрывы ДНК) наблюдалось уже на 2-е сут после инактивации камбаловидной мышцы [24]. Аналогичные данные были получены и в экспериментах с мышцами, у которых максимальные значения содержания апоптозинулирующего фактора (AIF) и экспрессии p53 наблюдались уже после 24 ч разгрузки [25]. Этому предшествовало резкое увеличение концентрации

каспазы-3 и каспазы-8 уже после 12 ч вывешивания. А повышенная концентрация Bcl-2 выявлялась даже после 6 ч разгрузки. При экспозициях более суток наблюдаемые проявления апоптоза снижались. Сходную динамику выявляли и при иммобилизации *m. soleus* [24]. При восстановлении после вывешивания задних конечностей уже на 7-е сут проявления апоптоза практически не обнаруживались [26]. Некоторые авторы не обнаруживали активации каспазного каскада в *m. soleus* при вывешивании или спинальной изоляции [27], отмечая в то же время в этих экспериментальных ситуациях транслокацию в ядро эндонуклеазы G, фермента митохондриального происхождения, осуществляющего деградацию ядерной ДНК. Недавно группа авторов подвергла животных вывешиванию при пониженной температуре, что по их замыслу должно было значительно замедлить развитие митохондриально-зависимых процессов. В этом случае также наблюдались апоптотические ядра и значительная активация каспаз [28].

Как уже отмечалось выше, при однократной физической нагрузке в мышечном волокне наблюдаются различные проявления апоптоза (фрагментация ДНК, повышенная активность каспаз и др.), однако регулярная физическая тренировка не только снижает эти проявления апоптоза, но и обладает антиапоптотическим действием в отношении ядерных изменений, развивающихся при пониженной мышечной активности [18].

В отличие от других клеточных структур, в волокнах скелетной мышцы апоптоз отдельных ядер не приводит к немедленной гибели волокна, хотя не может проходить без очевидных патологических последствий.

В последнее время Bruusgaard и др. [29] подвергли сомнению весь комплекс многократно описанных наблюдений ядерных потерь и апоптоза в условиях атрофии. Они проводили трансфекцию мышцей плазмидой, кодирующей GFP, который локализовался в миоядрах, а затем проводили анализ количества миоядер при денервации и разгрузке *m. extensor digitorum longus* (вызванной теномомией антагонистов) в течение длительного времени (14 дней). На фоне значительного снижения площади поперечного сечения мышечных волокон авторы не обнаруживали какого-либо уменьшения числа миоядер. Зафиксированные апоптотические изменения наблюдались лишь в клетках-сателлитах и клетках соединительной ткани, но отсутствовали внутри мышечного волокна. Аналогичные данные были получены другими авторами при исследовании детренировки мышц крыла японского перепела: все ядра, демонстрировавшие признаки апоптоза, оказались также мечеными индикатором синтеза ДНК бромдезоксисуридином (BrdU), т.е. оказались ядрами клеток-сателлитов [30]. В то же время Bruusgaard и Gundersen [29] основывают свои выводы на экспериментах с денервацией, разгрузкой и блокадой проведения нервного импульса к мышцам с преобладанием быстрых волокон, которые менее подвержены апоптозу (см. выше). Эти авторы не ставят под сомнение данные (приведенные выше), свидетельствующие об апоптозе и редукции миоядерного числа при моделировании действия микрогравитации методом антигравитационного вывешивания задних конечностей животных (и соответственно результаты аналогичных экспериментов с участием добровольцев). Они предполагают, что в этом случае апоптозу миоядер

способствуют системные проявления гравитационной разгрузки. К сожалению, приходится констатировать, что это предположение пока не находит экспериментального подтверждения.

Увеличение количества ядер в зрелом мышечном волокне наблюдалось в условиях силовой тренировки, экспериментальной рабочей гипертрофии (при удалении мышечных синергистов) и при восстановлении после атрофических процессов [26, 31–33]. Появление новых ядер в волокне может быть обеспечено только клетками-миосателлитами при их слиянии с мышечным волокном. Считается, что именно они обеспечивают мышечное волокно дополнительными ядрами для роста в постнатальный период и участвуют в восстановлении и локальной регенерации мышечных волокон после повреждения [34].

КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИКИ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ. МАРКЕРЫ МИОСАТЕЛЛИТНЫХ КЛЕТОК

Клетки-сателлиты в скелетной мышце – это мелкие одоядерные клетки, которые остаются в состоянии покоя (фазе G₀ клеточного цикла) до момента активации, после чего они начинают пролиферировать и могут сливаться с мышечными волокнами, являясь необходимым источником миоядер в постэмбриональном развитии, при гипертрофии и восстановлении ткани [12], или друг с другом при формировании новых мышечных волокон [16]. Предположительно, сателлиты – это покоящиеся в мышечной ткани миообласты. Существует мнение, что сателлиты происходят от эндотелиальных предшественников, ассоциированных с васкулатурой эмбриона, которые могут оставаться в интерстициальном пространстве скелетных мышц и экспрессировать CD 34 [35]. Однако количество миогенных предшественников в скелетной мышце превышает число клеток-сателлитов вследствие миграции или рекрутирования недифференцированных стволовых клеток из других источников. Показано, что популяция клеток-предшественников, представленных в скелетной мускулатуре, происходит от некоммутированных мезенхимальных клеток-предшественников костного мозга и отличается от сателлитных клеток. Это клетки т.н. сторонней популяции; в отличие от популяции сателлитных клеток они экспрессируют Sca-1 и CD-45. Они, очевидно, принимают участие в регенерации мышцы после повреждения и после трансплантации в мышцу потенциально могут давать рост как миоцитам, так и клеткам-миосателлитам [36, 37]. Миосателлиты могут быть идентифицированы в мышце по их расположению (между сарколеммой и базальной мембраной мышечного волокна), а также при иммуногистохимическом выявлении различных белков, которые экспрессируют эти клетки на разных этапах своего жизненного цикла. Десмин, *myf5*, *MyoD* обнаружены в активированных и пролиферирующих сателлитных клетках; для них характерна экспрессия генов регуляторных мышечных факторов, таких, как Pax-7, c-Met. Синтез миогенина и MRF4 характерен для конечной дифференцировки [38]. c-Met – рецептор для HGF – экспрессируется в скелетной мышце кроме сателлитов также и другими миогенными клетками-предшественниками. В сателлитах как покоящихся, так и активированных и пролиферирующих обычно происходит биосинтез молекул клеточной

адгезии, таких, как М-кадгерин (Mcad), NCAM (CD 56, Leu-19, Neural cell adhesion molecule), находящихся в узком пространстве между сателлитом и мышечным волокном. NCAM экспрессируется в активированных сателлитных клетках (миобластах) и в миотубах при регенерации мышцы, а также в нервно-мышечных синапсах. Недавно были получены данные, указывающие на то, что NCAM является наиболее ранним маркером коммитированных миобластов, т.е. определяет их однозначный переход из стадии пролиферации на этап дифференцировки [39].

Ключевой молекулой в миогенном морфогенезе является Mcad. Применяя сочетанное иммунологическое окрашивание на Mcad, NCAM, ламинин, десмин и клеточные ядра, Irintchev и др. [40] установили, что Mcad присутствует в сателлитах и миобластах в нормальной и регенерирующей мышце. По результатам одновременного окрашивания регенерирующей мышцы на Mcad и BrdU авторами был сделан вывод о том, что Mcad экспрессируется преимущественно в митотически неактивных (покоящихся) сателлитных клетках. После слияния миобластов экспрессия Mcad подавляется. Совместная экспрессия NCAM и Mcad очень часто обнаруживается в мышцах с нарушениями иннервации [40]. Позже было показано [41], что при гипертрофии скелетной мышцы, вызванной перегрузкой, на начальных этапах после воздействия стимула увеличивается число миосателлитов, экспрессирующих Mcad, на более поздних сроках растет число клеток, одновременно с Mcad окрашивающихся и на NCAM. Таким образом, окрашивание на Mcad было выявлено как в покоящихся миосателлитах, так и на стадиях пролиферации и дифференцировки.

КЛЕТКИ-МИОСАТЕЛЛИТЫ В УСЛОВИЯХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

При вывешивании в мышцах молодых крыс в течение трех дней происходят необратимые процессы перестройки: сокращение числа сателлитных клеток и уменьшение пролиферативного потенциала (по результатам включения BrdU) как в *m. soleus*, так и в *m. extensor digitorum longus*. При этом у растущих животных может необратимо измениться программа развития мышечных волокон с нарушением способности к увеличению числа мио ядер даже при возобновлении нагрузки [42, 43]. Митотическая активность сателлитных клеток уменьшается уже в течение 24 ч после начала вывешивания и полностью прекращается в течение 3–5 дней, причем наиболее сильное уменьшение наблюдается в *m. soleus*. Спустя 48 ч или более развиваются морфологические признаки атрофии [43]. Есть данные об усилении процессов пролиферации в *m. gastrocnemius* мышей в течение первой недели вывешивания [44]. Количество покоящихся и митотически активных сателлитов в мышечном волокне после вывешивания было снижено на 57 % по сравнению с контрольной группой [29]. В другой работе этих же авторов трехмесячное вывешивание не приводило к уменьшению числа и длины мышечных волокон у молодых животных, однако вызывало снижение количества клеток-сателлитов и мио ядер, не связанное с апоптозом, и уменьшение митотической активности сателлитов [45]. Однако в работе Ferreira и др. [44] показано неожиданное усиление пролиферативных процессов в *m. gastrocnemius* мышей в течение первой недели вывешивания.

ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ АКТИВАЦИИ КЛЕТОК-МИОСАТЕЛЛИТОВ

Считается, что в неработающей скелетной мышце миосателлиты находятся в состоянии покоя. Они активируются для выполнения своей роли в поддержании, гипертрофии или участия в восстановительных процессах при повреждении мышцы. Активация миосателлитов происходит также при силовой тренировке [46, 47].

Показано значительное увеличение общего числа клеток-сателлитов в нескольких моделях компенсаторной гипертрофии на животных и после эксцентрической нагрузки у человека [13, 48], а также при растяжении мышцы [49]. Считается, что физическая активность, например резистивная нагрузка или функциональная перегрузка мышцы (хроническое растяжение, удаление мышц-синергистов, тенотомия), вызывают повреждение мышечной ткани [50], которое стимулирует в ней процессы регенерации. Повреждение мышцы вызывает воспалительный ответ, в поврежденной зоне увеличивается количество нейтрофилов и макрофагов с последующим высвобождением клетками воспалительного инфильтрата или самими поврежденными волокнами ростовых факторов, которые могут регулировать пролиферацию или дифференцировку миосателлитов. Было показано, что цитокины (IL-4, IL-6, IL-15, TNF- α и др.) могут влиять на пролиферацию и дифференцировку клеток-сателлитов *in vitro* или в процессе регенерации после повреждения мышцы [51]. Показана роль фактора роста фибробластов (FGF) в активации миосателлитов [52]. Ключевым регулятором активности миосателлитов при регенерации считается фактор роста гепатоцитов (HGF) [18, 53] (рис. 1). Установлено, что HGF вызывает активацию клеток-сателлитов в культуре и *in vivo* при растяжении

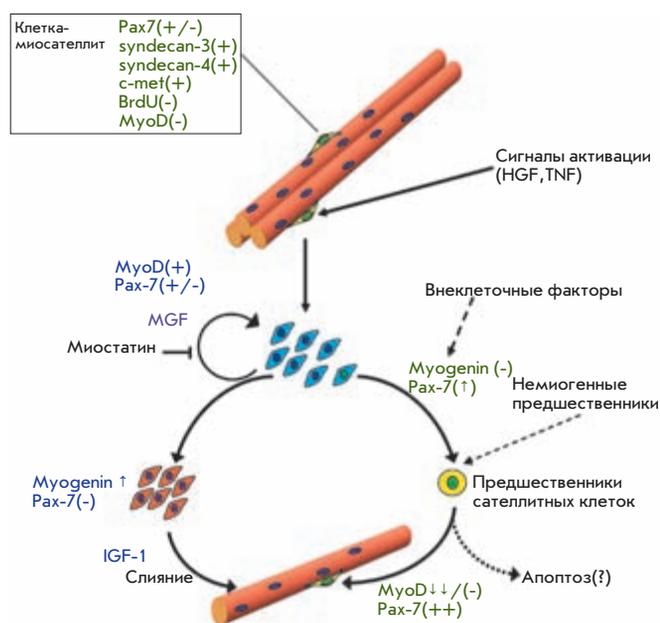


Рис. 1. Гипотетическая роль IGF-1 и MGF в жизненном цикле клеток-миосателлитов. Модифицированная схема Olguin и Olwin [54].

мышцы, причем высвобождение HGF стимулируется синтезом в мышечной ткани оксида азота (NO). Кроме того, показано, что в этом процессе принимают участие матриксные металлопротеиназы (MMPs) [55]. HGF воздействует на миосателлит посредством связывания с его рецептором c-met, запуская дальнейший каскад сигнальных событий, в т.ч. PI3K-Akt-путь, стимулирующий выживание и защиту от апоптоза. Результаты большого количества экспериментов свидетельствуют о важной роли инсулиноподобного фактора роста в развитии мышечной гипертрофии. В экспериментах на животных *in vivo* получены данные, указывающие на роль инсулиноподобного фактора роста (IGF) в ростовых процессах, опосредованных деятельностью миосателлитов [56, 57]. IGF может стимулировать пролиферацию и дифференцировку миосателлитов в культуре [58]. Клетки-миосателлиты мышей с гиперэкспрессией гена IGF-1 обладают повышенным пролиферативным потенциалом, который может вызываться активацией сигнального пути PI3K-Akt и снижением активности ингибитора циклин-зависимой киназы-2 [59], возникающей вследствие ингибирования транскрипционного фактора FOXO [57]. Поэтому сигнальные пути, активируемые IGF-1 в мышечных волокнах и усиливающие трансляцию, предположительно также активируются и в клетках-миосателлитах [60]. Однако IGF-1EA (та форма ростового фактора, которая экспрессируется в клетках печени и в волокнах скелетных мышц и секретируется в системный кровоток) не является единственным продуктом гена IGF-1. В результате физической нагрузки или механического повреждения мышц продукт гена IGF-1 претерпевает сплайсинг, который приводит в течение 1–2 дней к появлению сплайс-варианта, именуемого MGF (механозависимый фактор роста). Во время этого сплайсинга происходит сдвиг рамки считывания, что обуславливает изменение в последовательности домена на С-конце и соответственно появление так называемого E-домена, значительно отличающегося от последовательностей других сплайс-вариантов IGF-1 [61]. Этот уникальный С-концевой пептид работает как аутокринный ростовой фактор, который, как было показано, имеет короткий период полужизни. Одна из функций этого пептида – увеличение пула стволовых клеток скелетной мышцы (клеток-сателлитов) путем инициации пролиферации клеток-предшественников, однако при этом не происходит их дифференцировка по миогенному пути. После начального сплайсинга, приводящего к образованию MGF, продукт гена IGF-1 подвергается дальнейшему сплайсингу с образованием изоформы IGF-1EA. IGF-1EA предположительно стимулирует дифференцировку миосателлитных клеток и их слияние с мышечным волокном [38, 49, 62]. Однако, по мнению Wozniak и др. [38], только для ростового фактора HGF и молекулы NO была доказана их способность активировать миосателлиты, находящиеся в состоянии покоя. IGF, FGF и другие ростовые факторы значительно стимулируют пролиферацию и рост, который следует за активацией сателлитов. Некоторые другие ростовые факторы (в частности, фактор роста фибробластов) также способны активировать пролиферацию сателлитных клеток [52]. Показано, что активация клеток-миосателлитов может подавляться миостатином; предполагается, что именно миостатин поддерживает миосателлиты в состоянии покоя [63].

Однако механизмы, вызывающие активацию и пролиферацию клеток-сателлитов, а также их слияние с поврежденными или растущими мышечными волокнами, в настоящее время остаются до конца не изученными.

РОЛЬ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В РЕАЛИЗАЦИИ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ В МЫШЦЕ

Клетки-сателлиты обладают огромным пролиферативным потенциалом; в настоящее время считается, что их функция важна для гипертрофии и регенерации скелетной мышцы. Различные стимулы, такие, как функциональная перегрузка при удалении мышц-синергистов, тестостерон, кленбутерол, растяжение мышцы и упражнения, могут активировать сателлиты, стимулировать их вступление в клеточный цикл и пролиферацию как в быстрых, так и в медленных мышцах; усиление пролиферации миосателлитов наблюдается уже в первые дни после воздействия стимула. В работах Cramer и др. [46], Kadi и др. [13, 31] после серии интенсивных упражнений существенно увеличивается количество клеток, экспрессирующих NCAM. Однако в этой и других работах не показано, что эти пролиферирующие клетки сливаются с мышечными волокнами. В литературе нет однозначного ответа на вопрос о необходимости инкорпорации ядер миосателлитов в волокно для его роста или поддержания мышечной массы. Среди исследователей существуют различные взгляды на эту проблему. Многие авторы отрицают необходимость инкорпорации ядер миосателлитов в развитии мышечной гипертрофии [64]. Доказательство тому – большое число работ, проведенных с применением β 2-адреномиметиков, вызывающих гипертрофию мышцы без увеличения количества ДНК в ней или увеличения миоядерного числа. Данные Kadi и др. [13] свидетельствуют о том, что умеренные изменения размеров мышечных волокон могут происходить без добавления новых миоядер. Кроме того, было показано, что при нормальных физиологических условиях число миоядер не является определяющим для размера мышечных волокон, размер миоядерного домена варьирует в течение жизни животного [16] и является непостоянным при мышечной атрофии [65]. Несмотря на отсутствие дележащихся миосателлитов после воздействия ионизирующей радиацией, в работе Lowe [32] наблюдалась гипертрофия растянутой медленной *m. anterior latissimi dorsi* японских перепелов. В работе Dupont-Versteegden и др. [66] показано, что вслед за активацией миосателлитов (под действием резистивной нагрузки) не следовало их слияние с мышечными волокнами, таким образом, упражнения не способствовали поддержанию миоядерного числа в *m. soleus* спинальных животных. При этом всегда число активированных миосателлитов было выше, чем число разделившихся. Неясной остается физиологическая роль активации такого большого числа миосателлитов, если не происходит инкорпорации их ядер в растущие мышечные волокна. Недавно итальянские авторы показали, что активация протеинкиназы В в течение 3 нед. вызывала гипертрофию мышцы с увеличением массы примерно наполовину и не сопровождалась активацией сателлитов и инкорпорацией новых миоядер [11].

Возможность роста мышцы без инкорпорации сателлитных клеток тем не менее не исключает того, что одним из путей интенсификации синтеза белка является уве-

личение числа матриц ДНК за счет включения в волокно ядер миосателлитов. Сторонники концепции постоянства миоядерного домена считают, что начальные этапы роста мышцы сопряжены с усилением транскрипционных и трансляционных процессов до тех пор, пока миоядерный домен не достигнет определенного предела. И хотя было установлено, что умеренная гипертрофия в мышцах человека может происходить без внесения дополнительного генетического материала [13], с точки зрения вышеупомянутой концепции это объясняется наличием некоторого порогового уровня гипертрофии, чувствительного к инкорпорации новых ядер; т.е. на более поздних стадиях включение ядер миосателлитов является обязательным условием развития гипертрофии мышечных волокон и поддержания размеров ядерного домена [9, 33, 64]. Необходимость миосателлитов для развития мышечной гипертрофии впервые была продемонстрирована в работе Rosenblatt и др. [9]; в их эксперименте предотвращение пролиферации сателлитов γ -облучением снижало гипертрофию при функциональной перегрузке. Было установлено, что гибель сателлитных клеток под действием ионизирующего излучения и предотвращение инкорпорации их ядер в мышечные волокна может полностью нивелировать гипертрофию *m. extensor digitorum longus*, *m. soleus* и *m. plantaris* крыс, вызванную удалением мышц-синергистов или физической нагрузкой [67]. В работе Mitchell и Pavlath [33] после вывешивания и действия ионизирующего облучения, предотвращающего пролиферацию миосателлитов, восстановление мышц проходило нормально лишь на этапе, не требующем включения новых миоядер, после чего процесс восстановления замедлялся. Kawano и др. [45] показали, что у молодых животных при трехмесячном восстановлении после трехмесячного вывешивания площадь поперечного сечения волокон не отличается от показателей контрольных животных на фоне увеличения числа сателлитов и миоядер. Авторы сделали вывод о значимости сателлитных клеток в ростовых процессах, происходящих в камбаловидной мышце [45]. Было показано, что процессы пролиферации, дифференцировки и слияния с мышечными волокнами клеток-миосателлитов в скелетной мышце стимулируются фактором роста IGF-1 [68]. В культуре мышечных волокон IGF вызывал гипертрофию вследствие слияния клеток-миосателлитов [62]. Кроме того, гипертрофия, вызванная IGF-1, сопровождалась увеличением количества ДНК в мышечных волокнах и появлением дополнительных ядер [69]. Также было показано, что облучение наполовину предотвращало гипертрофию *m. extensor digitorum longus*, вызванную введением в нее IGF-1, по-видимому, в той части, которая была обусловлена инкорпорацией ядер миосателлитов в мышечные волокна [70]. Эти результаты указывают на то, что повышенный уровень мышечного IGF-1 при нагрузке может вызывать гипертрофию, в т.ч. за счет стимуляции пролиферации миосателлитов и их слияния с материнским волокном.

Недавно появились данные, свидетельствующие о том, что инкорпорация ядер миосателлитов в волокно может происходить и при низкоинтенсивных хронических нагрузках: при хронической низкочастотной электростимуляции и произвольной активности животных («произвольное колесо») [71]. При таком режиме сократительной активности

обычно не наблюдается рабочая гипертрофия. Однако интенсивно происходит процесс трансформации миозинового фенотипа в медленную сторону. Ранее было показано [72], что увеличение количества медленных волокон при низкочастотной стимуляции быстрых мышц у крыс нельзя полностью объяснить изменением экспрессии миозиновых изоформ внутри волокна. Недавно установлено, что подавление размножения миосателлитов с помощью ионизирующей радиации в значительной степени препятствует трансформации волокон в медленную сторону в условиях низкочастотной хронической стимуляции [73]. Интересно, что фармакологическая стимуляция PPAR β , одного из компонентов сигнальной системы, осуществляющей переключение экспрессии изоформ миозина в медленную сторону внутри миоядер, способствует слиянию миосателлитных клеток с мышечным волокном [74].

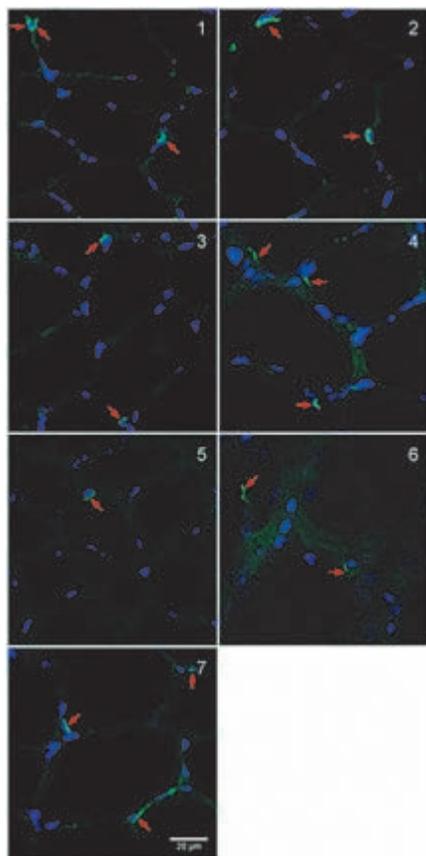
Таким образом, инкорпорация ядер миосателлитных клеток (очевидно, преимущественно с медленным паттерном экспрессии миозиновых изоформ) в мышечное волокно при длительной низкочастотной стимуляции способствует адаптивным изменениям миозинового фенотипа скелетной мышцы.

КЛЕТКИ-МИОСАТЕЛЛИТЫ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ ПРИ РАСТЯЖЕНИИ И РАСТЯЖЕНИИ НА ФОНЕ РАЗГРУЗКИ

Гравитационная разгрузка – это особый вид редукции сократительной активности мышц. Известно, что резкое снижение (до нуля) электрической активности волокон *m. soleus* наблюдается непосредственно после устранения опоры и продолжается в течение 2–3 сут воздействия. Затем электрическая активность начинает медленно увеличиваться и достигает нормального уровня к 14 сут пребывания в условиях реальной или моделируемой невесомости [75]. Однако постепенно увеличивающаяся активность мышцы не препятствует развитию атрофических процессов. Очевидно, что одновременно с пониженной сократительной активностью действует и другой фактор – резко уменьшенное (в невесомости – до нуля) сопротивление мышечному сокращению (весовая нагрузка), что оказывает значительное влияние на развитие атрофии [76]. Одним из способов исследовать роль этого фактора является хроническое или повторное применение пассивного растяжения, или стретча, на изучаемую мышцу. Стретч компенсирует отсутствие весовой нагрузки и действительно препятствует развитию атрофии [77].

Взаимосвязь между растяжением и активацией клеток-миосателлитов в культуре была показана в экспериментах Tatsumi и др. [78]. Покоящиеся клетки-сателлиты, подвергнутые циклическому растяжению, активировались и вступали в клеточный цикл, что, вероятно, стимулировалось синтезом в растянутых клетках HGF. Из экспериментов этой же группы авторов, применявших у крыс модель кратковременного (в течение 1 ч) растяжения на фоне вывешивания, следует, что в растянутой мышце при механическом растяжении происходит синтез оксида азота (NO). Он вызывает высвобождение связанного с поверхностью мышечных волокон HGF, который связывается с с-Met-рецептором клеток-миосателлитов, что приводит к их активации. В то же время есть данные о том, что при компенсаторной гипертрофии, вызванной удалением мышц-синергистов, включение

Рис. 2. Клетки-миосателлиты на срезах мышечной ткани крыс. Окрашивание на М-кадгерин. Группы: 1 – «вывешивание 3 сут», 2 – «вывешивание + растяжение 3 сут», 3 – «вывешивание 7 сут», 4 – «вывешивание + растяжение 7 сут», 5 – «вывешивание 14 сут», 6 – «вывешивание + растяжение 14 сут», 7 – контроль.



миоядер может протекать независимо от применения блока-тора NOS [79]. В модели Wozniak и др. [38] при растяжении выделенной изолированной мышцы, так же как и при растяжении отдельных мышечных волокон, наблюдается активация клеток-миосателлитов, которую авторы выявляли по усилению инкорпорации BrdU в ядра делящихся клеток. В наших экспериментах при моделируемой гравитационной разгрузке (на модели вывешивания) крыс после 3 дней воздействия не происходит изменение количества экспрессирующих М-кадгерин клеток-миосателлитов в *m. soleus* крыс, но уже после 7 дней разгрузки количество миосателлитов снижается на 30 %, а после 14 дней – вдвое по сравнению с контрольным уровнем. Пассивное растяжение *m. soleus*, примененное одновременно с гравитационной разгрузкой, позволяет поддержать количество сателлитов на 30 % выше контрольного уровня на 3-и и 7-е сут разгрузки и на уровне контроля на 14 сут разгрузки (рис. 2). Мы предположили, что элиминирование пролиферативных возможностей клеток-предшественников γ -облучением приведет к частичной утрате способности мышечных волокон к поддержанию их размеров при растяжении на фоне разгрузки. Эксперимент с локальным облучением голени крыс дозой в 2500 рад и последующим вывешиванием или вывешиванием с растяжением показал, что облучение не оказало никакого воздействия на профилактический эффект пассивного растяжения (предотвращение атрофии, трансформации волокон и снижение числа миоядер), наблюдаемый при вывешивании [80]. Недавно в экспериментах *in vivo* было продемонстрирова-

но, что введение *L*-аргинина (донора NO) при вывешивании снижает степень атрофии мышцы и поддерживает уровень миоядер и миосателлитов на уровне группы контроля. Кроме того, введение ингибитора NO-синтазы *L*-NAME достоверно снижает интенсивность пролиферации миосателлитных клеток в условиях стретча, сочетанного с вывешиванием животного. Таким образом, можно предположить, что в исследованной модели продукция NO оказывает существенное воздействие на пролиферацию миосателлитов. Однако введение ингибитора NO-синтазы не влияло на эффективность поддержания мышечной массы при растяжении (см. выше о значимости пролиферации миосателлитных клеток в условиях гипертрофии) [81].

При растяжении миотуб в культуре высвобождаются и другие эндокринные факторы, в т.ч. IGF. В работах лаборатории Goldspink [49, 61] показано, что активация миосателлитов в *m. tibialis anterior* при растяжении в сочетании с электростимуляцией, а также при механическом повреждении происходит на фоне экспрессии м-РНК IGF-1. Авторы связывают активацию и пролиферацию покоящихся миосателлитов при растяжении мышцы с экспрессией механозависимого фактора роста MGF (пик экспрессии сплайс-варианта MGF наблюдался в первые 4 дня после воздействия), а их дифференцировку и слияние с мышечными волокнами – с более поздней экспрессией IGF-1 EA (с 5-го по 12-й дни после воздействия) [49].

Интересно, что в наших экспериментах интенсификация экспрессии IGF-1 в условиях растяжения, сочетанного с гравитационной разгрузкой, наблюдалась только к 7-м сут воздействия, в то время как (см. выше) количество клеток-миосателлитов увеличивается уже к 3-м сут. Не исключено, что пролиферация этих клеток при стретче в наших условиях может быть связана с более ранней экспрессией MGF. Дальнейшие эксперименты должны прояснить этот вопрос.

Таким образом, можно считать, что усиление пролиферации миосателлитных клеток в условиях растяжения, сочетанного с гравитационной разгрузкой, стимулируемое различными механизмами, не является необходимым условием предотвращения атрофии мышечных волокон. Возможно, что поддержание миоядерного числа в этом случае обусловлено ангиоапоптотическим действием растяжения. Однако сопутствующая этому активация миосателлитов препятствует снижению регенераторного потенциала мышцы.

Итак, в настоящем обзоре мы обсудили одну из наиболее спорных проблем пластичности скелетных мышц – влияние сократительной активности на судьбу миоядерного пула. Важны также перспективы фармакологического и генотерапевтического управления процессами апоптоза миоядер и активности миосателлитных клеток. Требуется изучения применения доноров NO и рекомбинантных аналогов ростовых факторов для противодействия атрофическим изменениям скелетных мышц при постлегиопокинетическом восстановлении и реабилитации травмированных спортсменов. ●

Работа поддержана грантами РФФИ 07-04-00763, 08-04-01557, 10-04-00504. Авторы признательны профессору G. Goldspink (Royal Free and University College London) за полезные замечания при обсуждении основных положений обзора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90 (5). С. 508–521.
2. Григорьев А.И., Шенкман Б.С. // Вестник РАН. 2008. Т. 78 (4). С. 337–345.
3. Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L., Shapovalova K.B., et al. // Acta Astronautica. 2007. V. 60. P. 307–313.
4. Allen D.L., Roy R.R., Edgerton V.R. // Muscle Nerve. 1999. V. 22 (10). P. 1350–1360.
5. Cheek D.B. // Early Hum. Dev. 1985. V. 12. P. 211 – 239.
6. Ishido M., Kami K., Masuhara M. // Acta Physiol. Scand. 2004. V. 180 (3). P. 281–289.
7. Allen D.L., Monke S.R., Talmadge R.J., et al. // J. Appl. Physiol. 1995. V. 78 (5). P. 1969–1976.
8. Ohira Y., Yoshinaga T., Ohara M., et al. // J. Appl. Physiol. 1999. V. 87 (5). P. 1776–1785.
9. Rosenblatt J.D., Yong D., Parry D.J. // Muscle Nerve. 1994. V. 17 (6). P. 608–613.
10. Allen D.L., Yasui W., Tanaka T., et al. // J. Appl. Physiol. 1996. V. 81 (1). P. 145–151.
11. Blaauw B., Canato M., Agatea L., et al. // FASEB J. 2009. 23 (11). P. 3896–905.
12. Hikida R., Nostran S., Murray J., et al. // Anat. Rec. 1997. V. 247. P. 350–354.
13. Kadi F., Schjerling P., Andersen L.L., et al. // J. Physiol. 2004. V. 558. P. 1005–1012.
14. Aravamudan B., Mantilla C.B., Zhan W.Z., Sieck G.C. // J. Appl. Physiol. 2006. V. 100 (5). P. 1617–1622.
15. Mantilla C.B., Sill R.V., Aravamudan B., et al. // J. Appl. Physiol. 2008. V. 104 (3). P. 787–794.
16. Schultz E., McCormick K.M. // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1994. V. 123. P. 213–257.
17. Day M.K., Allen D.L., Mohajerani L., et al. // J. Gravit. Physiol. 1995. V. 2 (1). P. 47–50.
18. Allen D.L., Linderman J.K., Roy R.R., et al. // Am. J. Physiol. 1997. V. 273. P. 579–587.
19. Ohira M., Hanada H., Kawano F., et al. // Japan. J. Physiol. 2002. V. 52. P. 235–245.
20. Roy R.R., Zhong H., Talmadge R.J., et al. // J. Gravit. Physiol. 2001. V. 8 (2). P. 49–56.
21. Wang X.D., Kawano F., Matsuoka Y., et al. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2006. V. 290 (4). P. 981–989.
22. Reimann J., Irintchev A., Wering A. // Neuromuscular Disorders. 2000. V. 10. P. 276–282.
23. Koçtürk S., Kayatekin B.M., Resmi H., et al. // Eur. J. Appl. Physiol. 2008. V. 102 (5). P. 515–524.
24. Smith H.K., Maxwell L., Martyn J.A., Bass J.J. // Cell. Tissue. Res. 2000. V. 302 (2). P. 235–241.
25. Ferreira R., Neuparth M.J., Vitorino R., et al. // Physiol. Res. 2008. V. 57 (4). P. 601–611.
26. Oishi Y., Ogata T., Yamamoto K.I., et al. // Acta Physiol. (Oxf). 2008. V. 192 (3). P. 381–395.
27. Dupont-Versteegden E.E., Strotman B.A., Gurley C.M., et al. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2006. V. 291 (6). P. 1730–1740.
28. Nagano K., Suzuki E., Nagano Y., et al. // Acta Histochem. 2008. V. 110 (6). P. 505–518.
29. Bruusgaard J.C., Gundersen K. // J. Clin. Invest. 2008. V. 118 (4). P. 1450–1457.
30. Carson J.A., Alway S.E. // Am. J. Physiol. 1996. V. 270 (2 Pt 1). P. 578–584.
31. Kadi F., Thornell L.E. // Histochem. Cell. Biol. 2000. V. 113 (2). P. 99–103.
32. Lowe D.A., Alway S.E. // Cell Tissue Res. 1999. V. 296 (3). P. 531–539.
33. Mitchell P.O., Pavlath G.K. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2001. V. 281 (5). P. 1706–1715.
34. Grounds M.D. // Pathol. Res. Pract. 1991. V. 187 (1). P. 1–22.
35. Seale P., Rudnicki M.A. // Dev. Biol. 2000. V. 218 (2). P. 115–224.
36. Asakura A., Seale P., Girgis-Gabardo A., Rudnicki M.A. // J. Cell. Biol. 2002. V. 159 (1). P. 123–134.
37. Parise G., O'Reilly C.E., Rudnicki M.A. // Appl. Physiol. Nutr. Metab. 2006. V. 31 (6). P. 773–781.
38. Wozniak A.C., Kong J., Bock E., et al. // Muscle Nerve. 2005. V. 31 (3). P. 283–300.
39. Capkovic K.L., Stevenson S., Johnson M.C., et al. // Exp. Cell. Res. 2008. V. 314 (7). P. 1553–1565.
40. Irintchev A., Zeschnigk M., Starzinski-Powitz A., Wernig A. // Dev. Dyn. 1994. V. 199 (4). P. 326–337.
41. Ishido M., Uda M., Masuhara M., Kami K. // Acta Physiol. (Oxf). 2006. V. 187 (3). P. 407–418.
42. Mozdziaik P.E., Pulvermacher P.M., Schultz E. // J. Appl. Physiol. 2000. V. 88. P. 158–164.
43. Schultz E., Darr K.C., Macius A. // J. Appl. Physiol. 1994. V. 76. P. 266–270.
44. Ferreira R., Neuparth M.J., Ascensão A., et al. // Eur. J. Appl. Physiol. 2006. V. 97 (3). P. 340–346.
45. Kawano F., Takeno Y., Nakai N., et al. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2008. V. 295 (2). P. 458–467.
46. Cramer R.M., Langberg H., Magnusson P., et al. // J. Physiol. 2004. V. 558. P. 333–340.
47. Kadi F., Charifi N., Denis C., et al. // Pflügers Arch. 2005. V. 451 (2). P. 319–327.
48. Adams G.R., Haddad F., Baldwin K.M. // J. Appl. Physiol. 1999. V. 87 (5). P. 1705–1712.
49. Hill M., Wernig A., Goldspink G. // J. Anat. 2003. V. 203 (1). P. 89–99.
50. Allen D.G., Whitehead N.P., Yeung E.W. // J. Physiol. 2005. V. 567 (3). P. 723–735.
51. Husmann I., Soulet L., Gautron J., Martelly I., Barritault D. // Cytokine Growth Factor Rev. 1996. V. 7 (3). P. 249–258.
52. Kästner S., Elias M.C., Rivera A.J., Yablonka-Reuveni Z. // J. Histochem. Cytochem. 2000. V. 48 (8). P. 1079–1096.
53. Anderson J.E. // Mol. Biol. Cell. 2000. V. 11 (5). P. 1859–1874.
54. Olguin H.C., Olwin B.B. // Dev. Biol. 2004. V. 275 (2). P. 375–388.
55. Yamada M., Sankoda Y., Tatsumi R., et al. // Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2008. V. 40 (10). P. 2183–2191.
56. Rosenblatt J.D., Parry D.J. // J. Appl. Physiol. 1992. V. 73 (6). P. 2538–2543.
57. Machida S., Booth F.W. // Proc. Nutr. Soc. 2004. V. 63 (2). P. 337–340.
58. Adi S., Bin-Abbas B., Wu N.Y., Rosenthal S.M. // Endocrinology. 2002. V. 143 (2). P. 511–516.
59. Chakravarthy M.V., Abbrah T.W., Schwartz R.J., et al. // J. Biol. Chem. 2000. V. 275 (46). P. 35942–35952.
60. Sartorelli V., Fulco M. // Sci. STKE. 2004. V. 244. P. 11.
61. Goldspink G. // Physiology (Bethesda). 2005. V. 20. P. 232–238.
62. Jacquemin V., Furling D., Bigot A., et al. // Exp. Cell. Res. 2004. V. 299 (1). P. 148–158.
63. McCroskery S., Thomas M., Maxwell L., Sharma M., Kambadur R. // J. Cell. Biol. 2003. V. 162 (6). P. 1135–1147.
64. O'Connor R.S., Pavlath G.K., McCarthy J.J., Esser K.A. // J. Appl. Physiol. 2007. V. 103(3). P. 1107.
65. Wada K.I., Katsuta S., Soya H. // Japan. J. Physiol. 2003. V. 53 (2). P. 145–150.
66. Dupont-Versteegden E.E., Murphy R.J., Houlié J.D., Gurley C.M., Peterson C.A. // Am. J. Physiol. 1999. V. 277. P. 89–97.
67. Li P., Akimoto T., Zhang M., et al. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2006. V. 290 (6). P. 1461–1468.
68. Florini J.R., Ewton D.Z., Coolican S.A. // Endocr. Rev. 1996. V. 17 (5). P. 481–517.
69. Barton-Davis E.R., Shoturma D.I., Musaro A., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95 (26). P. 15603–15607.
70. Barton-Davis E.R., Shoturma D.I., Sweeney H.L. // Acta Physiol. Scand. 1999. V. 167 (4). P. 301–305.
71. Kurosaka M., Naito H., Ogura Y., et al. // J. Sports Science and Medicine. 2009. V. 8. P. 51–57.
72. Delp M.D., Pette D. // Cell Tissue Res. 1994. V. 277 (2). P. 363–371.
73. Martins K.J., Murdoch G.K., Shu Y., et al. // Pflügers Arch. 2009. V. 458 (2). P. 325–335.
74. Giordano C., Rousseau A.S., Wagner N., et al. // Pflügers Arch. 2009. V. 458 (5). P. 901–913.
75. Ohira Y., Jiang B., Roy R.R., et al. // J. Appl. Physiol. 1992. V. 73. P. 51–57.
76. Falempin M., Mounier Y. // Acta Astronaut. 1998. V. 42 (1–8). P. 489–502.
77. Ohira Y., Yoshinaga T., Yasui W., et al. // J. Appl. Biomechanics. 2000. V. 16. P. 80–87.
78. Tatsumi R., Liu X., Pulido A., et al. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2006. V. 290 (6). P. 1487–1494.
79. Gordon S.E., Westerkamp C.M., Savage K.J., et al. // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2007. V. 85 (6). P. 646–651.
80. Таракина М.В., Туртикова О.В., Немировская Т.Л. и др. // Цитология. 2008. Т. 50 (2). С. 140–146.
81. Каргашикина Н.Л., Туртикова О.В., Кузнецов С.Л. и др. // Докл. РАН. 2010. В печати.